

EL CICLO OVARICO DE *PROBOPYRUS RINGUELETI* VERDI Y SCHULDT,
1988 (ISOPODA: EPICARIDEA: BOPYRIDAE)¹

OVARIAN CYCLE OF PROBOPYRUS RINGUELETI VERDI Y SCHULDT,
1988 (ISOPODA: EPICARIDEA: BOPYRIDAE)

Miguel Schuldt*

RESUMEN

El propósito de este trabajo es efectuar un estudio microanatómico de los ovarios de *Probopyrus ringueleti* Verdi y Schuldt durante el proceso de maduración. Los ovarios poseen una zona germinativa laminar que se extiende dorsalmente según un plano frontal, evidenciándose un gradiente dorso-ventral que conduce a la estratificación de los elementos germinales, pudiendo distinguirse en un ovario maduro 4 regiones: a) un área con células goniales; b) una franja conteniendo gonias II y oocitos en profase temprana ("premeiótica"); c) otra con oocitos en previtelogénesis y vitelogénesis I; y, d) una región con oocitos en vitelogénesis II. Sobre la base de estas asociaciones celulares se propone una escala de maduración sexual de 4 estadios. La población de oocitos en vitelogénesis II es particularmente numerosa, incluyendo 7 u 8 hileras de ovas. Esta estructura plantea una interesante alternativa funcional: la posibilidad de que existan evacuaciones parciales. Posibilidad que se relaciona con la evidencia de que no necesariamente la liberación folicular afecte a la totalidad de los oocitos en vitelogénesis II, como es usual en crustáceos superiores. Se estima que la recuperación del tejido folicular liberado por la puesta precedente es sólo parcial, considerándose la eventualidad de que persista el mecanismo primario de foliculogénesis (por división de las células conjuntas) durante la restauración del ciclo ovárico.

PALABRAS CLAVE: Bopyridae, Microanatomía, Oogénesis; Foliculogénesis; Maduración Sexual.

ABSTRACT

The main purpose of this paper is to perform a microanatomic study of the ovary cycle of *Probopyrus ringueleti* Verdi y Schuldt. The ovaries show a germinative area with a dorsoventral maturative gradient that leads to germinal stratification. In a mature ovary there are 4 distinctive areas: a) an area with gonias; b) one that harbours gonias II and oocytes in an early profase ("premeiotic"); c) one with oocytes in previtellogenesis and vitellogenesis I; and, d) one that includes the oocytes in vitellogenesis II. On the basis of these cellular associations, a 4 stage ovary development scale was proposed. The oocyte population in vitellogenesis II was particularly numerous, including up to 7 or 8 rows of oocytes. This structure offers an interesting functional alternative: the existence of partial discharges. This possibility is related with the evidence that the follicular liberation does not necessarily affect all of the oocytes in vitellogenesis II - as is usual in higher crustacea. It is believed that recovery of the secondary follicular tissue is only partial and the possibility is being analysed that the primary mechanism of secondary folliculogenesis by cleavage- persists to the extent of follicle II necessities during restoration of the ovary cycle.

KEYWORDS: Bopyridae, Microanatomy, Oogenesis; Folliculogenesis, Ovarian cycle.

INTRODUCCION

Los bopíridos establecen consorcios con crustáceos decápodos [Markham, J.C. (1986)], conformando asociaciones parasitarias atípicas (hematófagos) catalogables como casos particulares de predación [Kuris, A. (1974, com. pers.)]. *Probopyrus ringueleti* Verdi y Schuldt es un huésped frecuente

¹Contribución científica N° 526 del Instituto de Limnología "Dr. R.A. Ringuelet" (ILPLA).

*Museo de La Plata, División Zoología Invertebrados I, 1900 La Plata, Argentina.

de las cámaras branquiales de *Palaemonetes argentinus* Nobili (Caridea, Palaemonidae), infectando también ocasionalmente a *Macrobrachium borellii* (Nobili). La presencia del parásito incide negativamente en la función respiratoria de los camarones de ambos sexos y la función reproductora de los hospedadores femeninos, en cuyos ovarios se halla ausente la vitelogénesis configurando un caso de castración [Schuldt, M. (1883); Schuldt, M. y L.A. Rodrigues-Capítulo, (1985, 1987)] equiparable a los ocasionados por otros representantes del género *Probopyrus* Giard y Bonnier [Beck, J.T. (1980b); Abu-Hakima, R. (1984)].

La prevalencia de *Palaemonetes argentinus* con *Probopyrus ringueleti* (branquiales) en el área estudiada fluctúa a lo largo del año (1 - 70%). Esta variación en la tasa de infección resulta de la interacción de elementos dinámico-poblacionales tales como la mortalidad de los camarones (octubre a diciembre, y febrero), reclutamiento (enero, febrero) y migración de los mismos (junio a agosto-septiembre) [Schuldt, M. y M.C. Damborenea (1989); Schuldt, M., L.R. Freyre y M.C. Damborenea (1988)]. La prevalencia se traduce en una disminución del potencial reproductor de los camarones (13,7 a 15,2%) [Schuldt, M. y M.C. Damborenea (1987)], pudiendo la presencia del parásito limitar la expansión de los hospedadores en su hábitat, como se constató efectivamente con *Probopyrus floridensis* Richardson [Beck, J.T. (1979); Dale, W.E. y G. Anderson (1982)]. *P. argentinus* constituye el principal sustento de una variada ictiofauna de interés comercial y deportivo [Schuldt, M. y M.C. Damborenea (1989)], lo cual por si solo explica el interés puesto en este consorcio, máxime teniendo en cuenta que los paleomónidos albergan a especies cultivadas con éxito en casi todas las regiones tropicales y subtropicales del globo (v.g. *Macrobrachium* Bate ssp.) [Provenzano, A.J. (1985)]. No obstante, la biología de los bopíridos en general, exceptuando a *P. pandalicola* y *P. ringueleti* es poco conocida [Beck, J.T. (1980abc); Verdi, A.C. y M. Schuldt (1988)], al punto que, salvo observaciones preliminares [Schuldt, M. (1983, 1987)] aún falta una descripción dinámica del ovario de *Probopyrus*. Cabe destacar que *P. ringueleti* es el primer isópodo donde se constata al menos una recuperación parcial del tejido folicular liberado por la puesta precedente [Schuldt, M. (1983)]. Según Charniaux-Cotton, H. (1978) la recuperación postpuberal del tejido folicular (secundario o permanente) (II) es habitual en Malacostraca. Sin

embargo, los trabajos de Besse, G. (1976) evidencian que en los isópodos estudiados no existe una recuperación de las células conjuntivas del folículo II, involucionando éstas después de la ovulación, lo cual implica, aparentemente, cuestionar la validez general del modelo propuesto por Charniaux-Cotton, H. (1978). El papel transicional respecto de la recuperación folicular que manifiesta el comportamiento ovárico de *P. ringueleti* posibilita *prima facie* relacionar la dinámica folicular de isópodos con el resto de los malacostracos, en un marco de referencia amplio tal como lo constituye el modelo propuesto por Schuldt, M. (1987), el cual resulta de relacionar la recuperación folicular con la mayor o menor extensión que adquieren los procesos de reabsorción oocitaria en cada ciclo ovárico.

Otro aspecto que no puede soslayarse es la relación que pudiera existir entre la vitelogénesis y la presencia o ausencia de machos, aún cuando en crustáceos superiores, salvo algunos casos que revisten el carácter de excepcionales, la presencia de machos carece de influencia decisiva sobre el desarrollo vitelogenético [Charniaux-Cotton, H. (1978); Krishnakumar, R. y K.G. Adiyodi (1981)]. En el anfípodo *Orchestia gammarellus* (Pallas) se observa que las hembras en ausencia de machos no evacuan los oocitos maduros, los cuales involucionan [Charniaux-Cotton, H. (1974)]. En isópodos se ha podido constatar únicamente en dos especies una dependencia entre la vitelogénesis secundaria y el acoplamiento, se trata de *Porcellio dilatatus* Brandt y *Armadillo officinalis* Duméril, donde la ausencia del macho impide el desarrollo de la vitelogénesis II [Legrand, J.J. (1958); Besse, G. (1976)].

Consecuentemente se hace imprescindible efectuar un análisis microanatómico pormenorizado de las transformaciones que acontecen a lo largo del proceso de maduración oocitaria de *P. ringueleti*, con el propósito de obtener por primera vez una descripción dinámica del funcionamiento ovárico de un crustáceo epicárido. Dicho propósito motiva la presente contribución a la biología reproductiva del taxón considerado, efectuada sobre la base de una evaluación de la histología ovárica de *P. ringueleti*. Secundariamente, toda extensión en el conocimiento de la biología inherente a *Probopyrus* resulta de interés también desde el punto de vista taxonómico, ya que se trata de una entidad genérica donde la acotación específica, partiendo de la morfología externa, es particularmente ardua [Markham, J.C. (1985)], requiriéndose

la concurrencia de elementos diagnósticos proporcionados por la etología y biología de las especies en cuestión [Schuldt, M. (1990)].

MATERIALES Y METODOS

Los animales estudiados fueron capturados en el Canal Villa Elisa (colector de los arroyos Carnaval y Martín), aproximadamente a 300 m de su desembocadura en el Río de la Plata (Boca Cerrada, Selva Marginal de Punta Lara, Prov. Buenos Aires, Argentina).

Para la evaluación preliminar del desarrollo ovárico de *P. ringueleti* se contó con 5 muestreos realizados de agosto a diciembre de 1981 (11, 13 y 28.08.81; 07.09.81; 14.12.81; n=113 parásitos). Se efectuaron 6 relevamientos para obtener información adicional sobre el período de puesta de septiembre de 1982 a enero de 1983 (09.09.82; 07.10.82; 11.10.82; 12.11.82; 27.01.83; n=278 parásitos). Finalmente se dispuso un muestreo mensual desde el 10.10.84 hasta el 18.02.86 (tamaño mínimo de cada muestra: 75-100 *P. argentinus*, capturándose más de 200 *P. ringueleti*).

Con los fijadores ensayados (Regaud, Maximow, Helly, Hollande, Bouin, Halmi y Carnoy) se obtuvieron buenos resultados solo con el Bouin y el Carnoy (6:3:1). Se deshidrató y aclaró con N-Butanol, incluyéndose las piezas con paraplast. Los cortes de 6 a 8 μm fueron coloreados con hematoxilina de Harris y eosina, tricrómico de Gomori y PAS [Gabe, M. (1968)].

Un contingente de aproximadamente 90 *P. argentinus* con sus respectivos *P. ringueleti* fue mantenido en 1 acuario de 85 lts. desde el 01.09.82 hasta el 28.12.82. De ellos pudieron ser individualizados 15 camarones gracias a la presencia en el cefalopereion de metacercarias de un probable *Phyllodistomum* Braun sp. Las encapsulaciones de este trematode se aprecian a simple vista, siendo útiles marcas naturales cuando por su número y topografía proporcionan diseños definidos. Las observaciones de acuario se registraron diariamente (a las 10.00 y 18.00 horas). Los camarones fueron alimentados 2 veces por semana con carne bovina picada. De esta manera se obtuvieron datos adicionales acerca del período de puesta así como de la restauración del ciclo ovárico del epicárido.

RESULTADOS

1. ZONACIÓN INTRA-OVARICA. CARACTERIZACIÓN Y EVOLUCIÓN DE LA PROGENIE GERMINAL

Los ovarios, al igual que los testículos, son pares. Están situados en el pereion, dorsalmente respecto de los órganos digestivos. La ubicación del parásito en la cámara branquial del hospedador determina la asimetría del pereion, la cual se manifiesta también en el desarrollo de los ovarios, siendo de menor extensión el ovario derecho de *P. ringueleti* cuando se aloja en la cámara branquial derecha de *P. argentinus*, reduciéndose el ovario izquierdo cuando parasita a la cámara opuesta.

Las gónadas de hembras juveniles de *P. ringueleti* de 1,5 mm (largo total o Lt) poseen todavía un aspecto tubular, compacto, que alberga a células conjuntivas, oogonias, y oocitos en profase meiótica, predominando en estos últimos imágenes zigo-paquiténicas (Fig. 1). Los ovarios presentan una delgada teca conjuntiva consistente en una membrana de tipo "basal" de 0,5 a 1,5 μm de espesor, sobre la que se observan células conjuntivas cuyos núcleos hacen hernia hacia el interior del ovario. Estas células son semejantes a

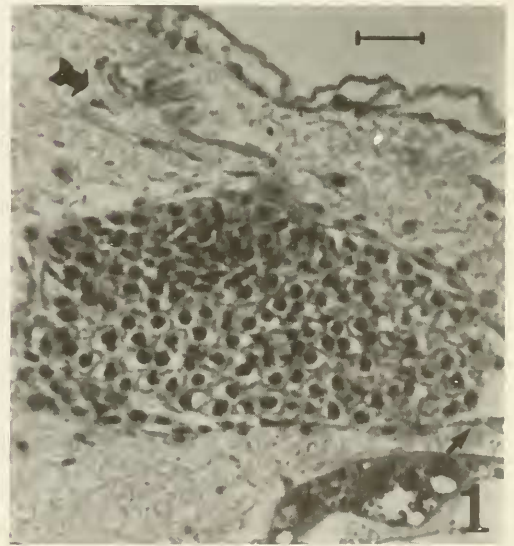


FIG. 1. Sección transversal del ovario de una hembra juvenil (1,5 mm Lt) con predominio de oocitos profásicos (zigo-paquiténicos) (Flecha mayor: fibras musculares vinculadas a la teca periovárica; Flecha menor: membrana "basal").

las células conjuntivas que posteriormente conformarán al folículo. A la teca periovárica suelen adosarse externamente diversas células conectivas, desde elementos equiparables a los "foliculares" (y que aparentan ser de escasa motilidad), hasta grandes células ameboides del tipo de los macrófagos (talla nuclear: 4-6 μ m; talla celular: 7-15 μ m), con granulaciones acidófilas en el citoplasma. En la teca también se detecta la presencia de fibras musculares, las cuales no son constantes y pueden observarse en la periferia dorsal de la teca, siendo su disposición de tendencia circular (no alcanzan la faz ventral del ovario). Estas fibras se relacionan con haces musculares cuyas células confluyen dorsalmente (filamentos suspensorios?) (Fig. 1).

El aspecto tubular de las gónadas desaparece a medida que el ovario se extiende. Las secciones transversales del ovario de hembras adultas (mayores de 3 mm Lt) permiten observar la naturaleza

anisótropa [Weibel, E.R.(1969)] del órgano. El gradiente de maduración de las células germinales es hacia el ventro. La secuencia madurativa se origina a partir de una entidad laminar dorsal que se extiende horizontalmente (Fig. 2a) y alberga a células goniales y conjuntivas. Esta lámina celular, que no siempre se presenta como una monocapa de gonocitos, posiblemente sea homologable a la zona germinativa de *O. gammarellus* [Charniaux-Cotton, H. (1959, 1978)]. De esta manera resulta una estratificación de las gonias y de los oocitos (Fig. 2b), pudiendo distinguirse en un ovario en madurez avanzada a 4 regiones, cada una de las cuales alberga a una asociación o población celular definida:

a) La formación laminar dorsal alberga principalmente a gonias I y células conjuntivas (Figs. 2-5). Las gonias presentan un núcleo claro (de 6-9 μ m), redondo u ovoide, con cromatina granular. Los focos cromáticos suelen ser periféricos y subcentrales; estos últimos tienden a aproximarse al nucléolo (de 1-2 μ m) (Fig. 5). Las células conjuntivas poseen un núcleo muy ovoide o subtriangular (de 3-6 μ m), con un gránulo cromático central (de aproximadamente 1 μ m). La carioteca y la cariolinfa de los elementos mesodérmicos suele ser algo más densa que la de las células goniales.

b) Ventralmente se extiende una banda (Fig. 2b) que alberga oogonias, generalmente las de mayor talla, consideradas gonias II dada la escasa o nula provisión de células mesodérmicas [Charniaux-Cotton, H.(1976); Payen, G.G.(1977); Zerbib, C. (1980)]. Los gonocitos tienden a evolucionar hacia la profase meiótica, y aparentemente sin experimentar una mitosis previa. A continuación, aunque suele advertirse cierta mezcla entre tipos celulares, se sitúan los oocitos profásicos, siendo la figura nuclear más frecuente el zigo o paquinema, muy denso y polarizado, observado también en otros crustáceos superiores [Rouquette, M. (1979); Laulier, M. (1974); Payen, G.G. (1974); Schuldt, M. (1980a)]. Los núcleos en diacinesis temprana (9-10 μ m) [Laulier, M. (1974); Payen, G.G. (1974)] son menos frecuentes (Fig. 5).

c) A continuación, hacia el ventro (Fig. 2b), se hallan emplazados los oocitos en previtelogénesis y vitelogénesis primaria (I) con las correspondientes células de la trama mesodérmica o foliculares (Figs. 5 y 11). Se trata de oocitos con una vesícula germinativa en crecimiento, con un nucléolo prominente. El citoplasma es basófilo y granuloso. En estas células no es posible discriminar la previ-

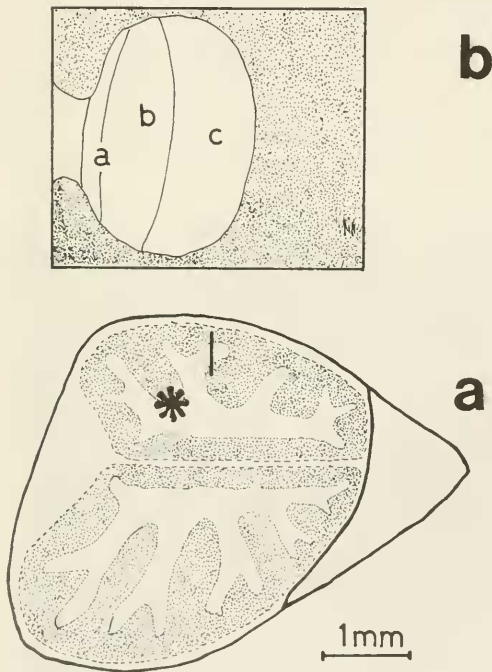


FIG. 2. a) Estructura ovárica (semiesquemática) de una hembra adulta (sección frontal) (*: ovario derecho; grisado: región del ovario con vitelogénesis II; barra: área de sección transversal de una proyección ovárica - detallada en b). b) Estratificación celular intraovárica (sección transversal; barra en Fig. 2a): gonias I (a), gonias II (b) y oocitos "premeióticos" (b), oocitos en previtelogénesis y vitelogénesis I (c), y oocitos en vitelogénesis II (área punteada) (véase también Fig. 5).



FIG. 3. Hembra virginal (transición subadulto-adulta): ovario en madurez incipiente (flechas).

FIG. 4. Hembra adulta. Ovarios en madurez media (*: oocitos en vitelogénesis II).

FIG. 5. Hembra adulta. Madurez Media. Detalle de las poblaciones celulares (véase Fig. 2b) (flecha menor: células conjuntivas o "foliculares"; flecha mediana: oogonias I; * menor: gonias II; flecha mayor: oocitos en Zigo-paquitene; * mediano: región de previtelogénesis y vitelogénesis I; estrella: zona con oocitos vitelogenéticos I en necrobiosis; y, * mayor: oocito en vitelogénesis II).

telogénesis de la vitelogénesis endógena o primaria [Charniaux-Cotton, H. (1978); Schuldt, M. (1980a); Meusy, J. J. y H. Charniaux-Cotton (1984)]. La foliculogénesis secundaria (II) [Charniaux-Cotton, H. (1978)] se observa en oocitos cuyo núcleo posee un diámetro que oscila entre 12 y 14 μm , siendo la talla celular respectiva de aproximadamente 25 μm (Figs. 5 y 11).

d) Finalmente, se sitúa el estrato ventral (Fig. 2b), el más voluminoso en un ovario maduro, integrado por oocitos en vitelogénesis secundaria (II). La vitelogénesis II se observa en oocitos con un diámetro nuclear de aproximadamente 14 μm y una talla celular de 25-30 μm . Su citoplasma presenta vacuolizaciones y gotitas eosinófilas. Estas últimas son de aproximadamente 1 μm (Figs. 6 y 11). Durante el comienzo de la vitelogénesis II persiste un incremento de la vesícula germinativa hasta alcanzar 20 μm , luego su talla se mantiene más o menos estable. La heterogeneidad del nucléolo se acentúa, siendo su talla de aproximadamente 8 μm . La estabilización del crecimiento nuclear corresponde a oocitos de 35 μm , con vacuolas de 10 μm y gotas vitelinas de 4 μm . Posteriormente el vitelo conforma grandes placas de 9-15 μm (eosinófilas, eritrófilas y PAS+), que ocupan prácticamente la totalidad del ooplasma, que queda reducido a los finísimos puentes basófilos que delimitan las placas de vitelo. El citoplasma alberga además a grandes gotas que aparecen "vacías" después de los pasajes por los solventes orgánicos. Su talla suele ser algo mayor que las placas proteicas (Figs. 7 y 9).

Las ovas son expulsadas con una talla de aproximadamente 180 μm . Su núcleo posee aspecto estrellado. El nucléolo es heterogéneo, vacuolado, llegando a medir 12 μm (Figs. 6 y 10). El huevo de *P. ringueleti* es microlecítico, con un diámetro próximo a los mayores consignados para Bopyridae [Stromberg, J. O. (1971)].

Se observan procesos de reabsorción celular a lo largo de todo el ciclo oogenético, afectando aisladamente a los distintos tipos oocitarios descriptos. Destacables por el número de oocitos involucrados son los fenómenos de reabsorción directa y reaccional que se aprecian durante la madurez media y avanzada, afectando a oocitos en vitelogénesis I y II, y especialmente a los que inician la vitelogénesis propiamente dicha (II). La presencia de figuras mielínicas en el ooplasma suele ser el síntoma precoz del inicio de la sucesión muerte-necrosis [Bessis, M. (1970)] (Figs. 8 y 9); mientras que el tejido folicular de sustitución

[Rubiliani-Durozoi, M., C. Rubiliani y G.G Payen (1980)] constituye una entidad semipermanente, y climax de esta sucesión, que revela la existencia en el pasado gonadal de procesos de reabsorción reaccional (Figs. 12-14).

2. ESCALA DE MADUREZ SEXUAL

En el transcurso de las distintas etapas por las que atraviesan los contingentes germinal y accesorio del ovario en su progresión hacia la madurez, es conveniente distinguir la presencia de una fase unidireccional, no repetitiva, que es la que se cumple en los ovarios de los animales virginales cuando se inicia el ciclo ovárico (denominados, frecuentemente, estadios de inmadurez y premadurez virginal) [Christiansen, H.E. (1971)], y que se integra con el desarrollo de una fase cíclica del proceso reproductivo, comprendiendo esta última tanto a los estadios subsiguientes a la premadurez como a la recapitulación de estos estadios entre puesta y puesta, tal como se observa en animales pertenecientes al estrato reproductivo. Para la presente evaluación se contó principalmente con ejemplares que proporcionaron información acerca de los estadios de madurez correspondientes a la segunda fase, por lo cual se caracterizarán casi exclusivamente las transiciones gonadales observables a lo largo de una maduración de puesta de un ovario del tipo adulto, comprendiendo dicho lapso: a) la organización de los folículos II, b) la vitelogénesis II, c) la emisión de los oocitos, y d) la reconstitución del folículo II. Sobre la base de la presencia y/o extensión de las citadas entidades morfológicas y funcionales es posible distinguir a 4 estadios de maduración:

I. Madurez incipiente. Ovario de escaso desarrollo, ocupando el mismo en una sección transversa menos del 30% del tejido conectivo laxo (lacunar) circundante. La progenie oocitaria arriba al término de la vitelogénesis primaria. La foliculogénesis II es incipiente. Ausencia de oocitos con placas de vitelo eosinófilo (Fig. 3).

II. Madurez media. El ovario se extiende, ocupando el estrato oocitario en vitelogénesis II la mayor parte de la trama conjuntiva disponible (Figs. 4 y 5).

III. Madurez avanzada. El estrato oocitario en vitelogénesis II se ha extendido ventrolateralmente hasta las inmediaciones de la pared

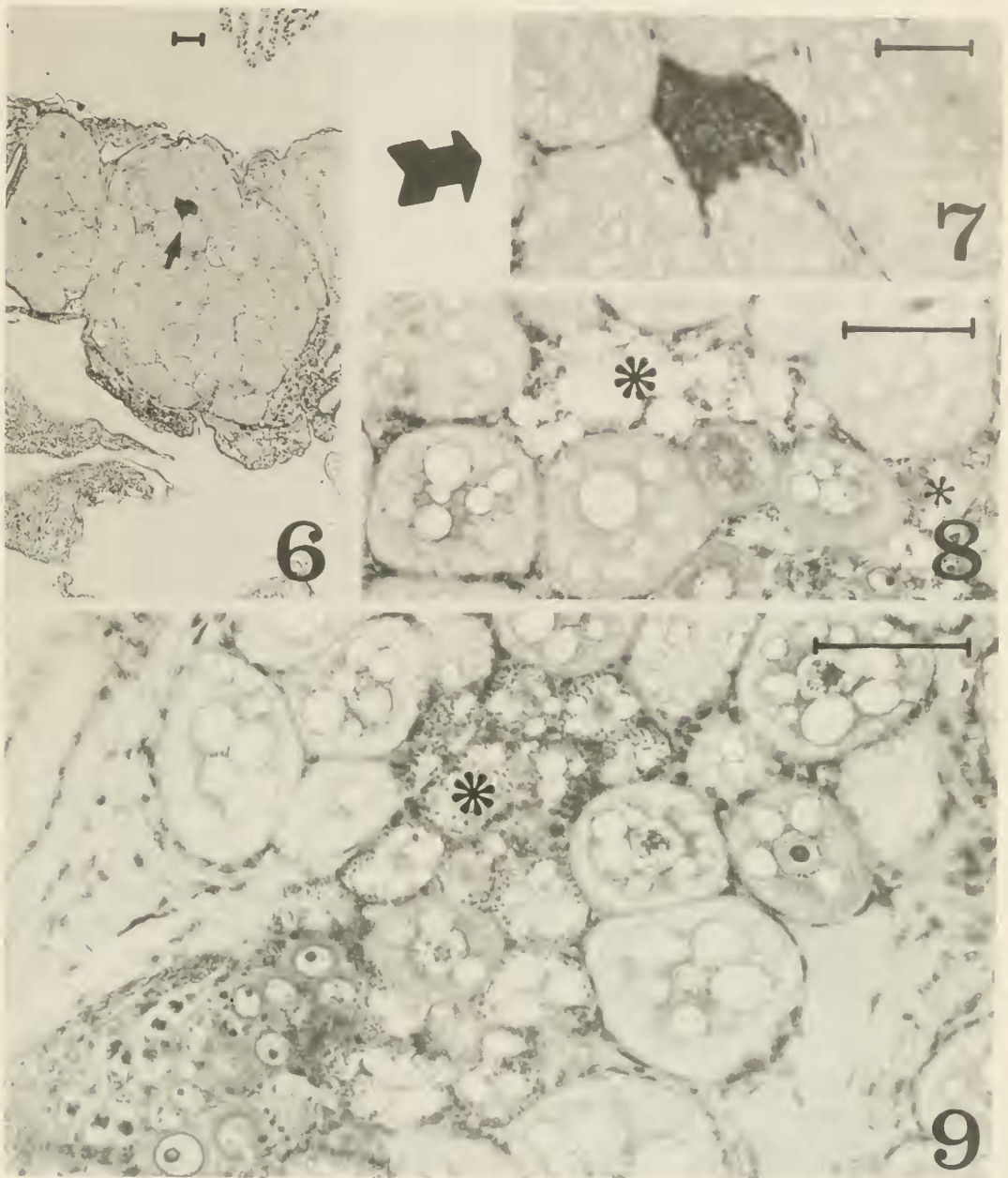


FIG. 6. Hembra adulta. Madurez avanzada. Los oocitos en vitelogénesis II rodean al resto de las células germinales (flecha).

FIG. 7. Detalle de la figura anterior.

FIG. 8. Hembra virginal. Reabsorción oocitaria directa incipiente (* menor) y reaccional (* mayor) en oocitos pertenecientes a las primeras etapas de la vitelogénesis II.

FIG. 9. Hembra virginal. Oosorción directa incipiente: figuras mielínicas (*) (oocitos en etapas iniciales de la vitelogénesis II, área central de la figura).

corporal. Las tallas oocitarias del mismo pueden presentar variaciones más o menos acusadas de uno a otro animal, desde 60 μm hasta 180 μm (talla de ovulación). La fluctuación de las tallas oocitarias posibilita, en caso de ser necesario, y atendiendo a la ausencia o presencia de ovas próximas a la ovulación, proceder a una subdivisión del estadio III en una madurez avanzada *sensu stricto* (IIIa) y una madurez total (IIIb) (Figs. 6 y 7).

IV. Evacuación (ovulación) y postpuesta.

La presencia de la cavidad folicular o *cisternae follicularis* (CF) [Schuldt, M. (1981)], albergando algún oocito residual en vitelogénesis avanzada o total, caracteriza a la primera fase de este estadio (Figs. 10 y 11). El tiempo transcurrido desde la ovulación se aprecia en función del grado de obliteración de la cavidad folicular. La reducción de la CF se debe al repliegue del contingente de células foliculares hacia los oocitos que se hallan al término de la vitelogénesis I. De esta forma se constituye el folículo II [Charniaux-Cotton, H. (1978)]. Se puede considerar que la postpuesta da paso a la madurez incipiente cuando el tejido folicular vaciado se ha adosado totalmente a los oocitos en vitelogénesis I. La reducción de la CF y el emplazamiento del tejido folicular secundario (TFS) coinciden con las primeras fases de la segmentación de los huevos, apreciándose por plano de corte en cada embrión de 2 a 4 núcleos (Figs. 10-12).

3. PRESENCIA DE OOGONIAS

Las gonias se detectan tempranamente en las gónadas, habiéndoselas observado ya en *P. ringueleti* juveniles (de aproximadamente 1 mm Lt) y subadultos (tallas inferiores a 3 mm Lt). Las oogonias se hallan presentes en cada uno de los 4 estadios de madurez descritos para las hembras adultas (mayores de 3 mm Lt; sección 2). Esta persistencia del epitelio germinal a lo largo de toda la existencia de los individuos es habitual en crustáceos superiores [Charniaux-Cotton, H. (1978)] (Figs. 1, 5 y 11).

4. RECUPERACIÓN DE CÉLULAS MESODÉRMICAS O FOLICULARES

El adosamiento de células conjuntivas al folículo primario [Charniaux-Cotton, H. (1978)], provenientes de los folículos secundarios vaciados

en la ovulación precedente, y que tiene lugar durante la postpuesta, implica una recuperación folicular (Figs. 11 y 12). Cabe señalar la existencia de procesos necrobióticos (directos y reaccionales, con tendencia a la formación de tejido folicular de sustitución), que sin duda inciden negativamente en la cantidad de las células foliculares recuperadas, no obstante, se observa una integración celular efectiva al nuevo folículo (Fig. 11).

5. VITELOGÉNESIS Y PRESENCIA DE MACHOS

En el transcurso del período de reproducción (noviembre 1982) se recogieron 9 hembras adultas de *P. ringueleti* carentes del macho enano que habitualmente se observa en el pleon de las hembras. El examen microanatómico de los ovarios de 8 de estas hembras permitió constatar la ausencia de vitelogénesis II, o bien observar únicamente la presencia de un número reducido de oocitos en vitelogénesis II con síntomas de necrobiosis y con tejido folicular de sustitución a nivel de las ovas mayores (que no sobrepasan los 30 μm) (Fig. 13). En sólo 1 de las hembras pudo constatarse cierto progreso de la vitelogénesis II. En esta hembra la talla oocitaria máxima no sobrepasa los 70 μm , notándose una gran variabilidad en la talla de los distintos oocitos en vitelogénesis, y en franco contraste con el desarrollo sincrónico que se observa habitualmente en ovarios en madurez media. La estructura ovárica de estos animales es similar a la de la hembra carente de macho de una de las cámaras branquiales de *P. argentinus* cuando ambas están ocupadas por *P. ringueleti* [Schuldt, M. y L.A. Rodrigues-Capítulo (1985)].

6. OBSERVACIONES DE ACUARIO: UNOS POCOS DATOS RELATIVOS A DINÁMICA OVÁRICA

El período de observación (01.09.82 - 28.12-82) se corresponde con los meses en que se registra el mayor número de *P. ringueleti* ovíferos [Schuldt, M. y M. C. Damborenea (1987)]. La temperatura del agua de los acuarios fluctuó según la temperatura ambiente (laboratorio no calefaccionado) (temperatura media mensual: septiembre = 14,5 °C, octubre = 16,3 °C, noviembre = 18,4 °C, y diciembre = 22,4 °C).

De los 15 *P. ringueleti* individualizados gracias al diseño característico que proporcionan los

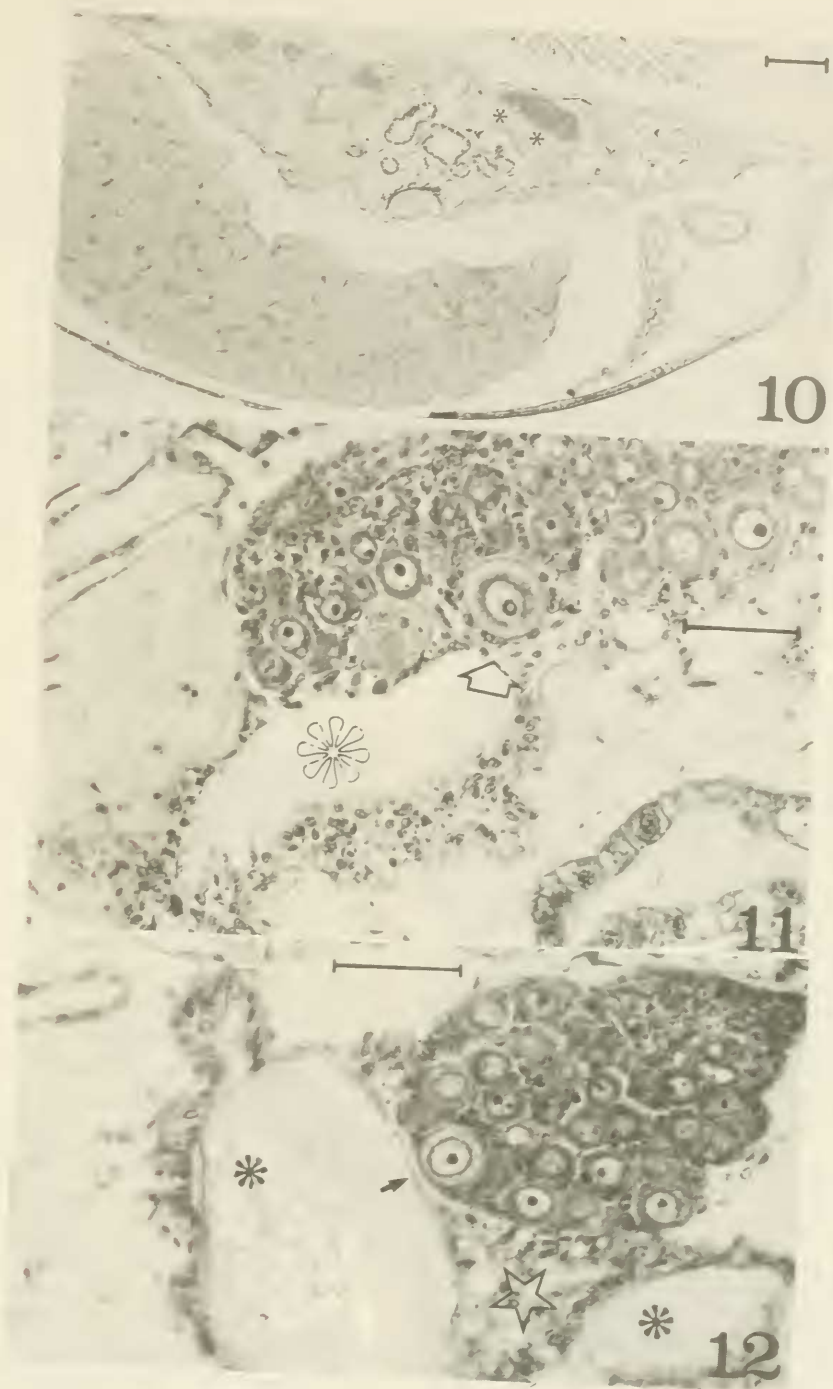


Fig. 10. Hembra ovígera con oocitos residuales en reabsorción directa (*).

Fig. 11. Hembra ovígera. Recuperación folicular (flecha) y remanente de la cavidad o cisterna folicular (*) (la flecha señala un oocito con síntomas de vitelogénesis II).

Fig. 12. Hembra ovígera. Ovario con oocito al término de la foliculogénesis II (flecha), con ovas residuales en reabsorción directa (*), y tejido folicular de sustitución (estrella).

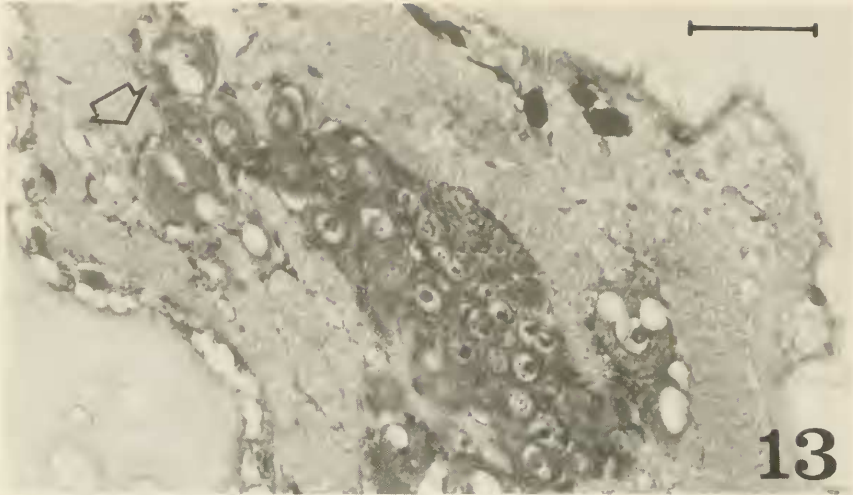


FIG. 13. Estructura ovárica de una hembra adulta carente de macho. Las ovas mayores (en vitelogénesis II incipiente) presentan necrobiosis directa y reaccional (flecha).



FIG. 14. Ovario atípico (hembra adulta, madurez avanzada) con procesos de oolisis acentuada afectando la porción distal de la región de vitelogénesis II. Próximo a la pared corporal ventral se observa tejido folicular de sustitución (flechas).

Módulo (escala). Figs. 1 y 5: 25 μ m; Figs. 3, 7-9, 11-13: 50 μ m; Figs. 4, 6 y 14: 100 μ m; y Fig. 10:200 μ m.

Phyllostromum sp. en el cefalopereion de los *P. argentinus* sólo 3 isópodos proporcionan información útil a los fines propuestos (tiempo de incubación de los embriones, lapso que transcurre entre puestas y número de las mismas):

P. ringueleti (1). Ovula 07.10.82. Incuba durante 9 días. 4 días después de liberar la puesta ovula por segunda vez, incubando 20 días. Transcurridos 4 días desde la liberación de las larvas ovula por tercera vez. La incubación se interrumpe al morir a los 9 días de la misma (23.12.82) el hospedador.

P. ringueleti (2). Ovula 21.10.82. Incuba hasta 25.12.82 (65 días).

P. ringueleti (3). Ovula 24.11.82. Incuba hasta 28.11.82 (4 días). 15 días después ovula por segunda vez, incubando durante 20 días.

DISCUSION

1. FOLICULOGÉNESIS Y VITELOGÉNESIS, SU RELACIÓN CON PROCESOS DE REABSORCIÓN REACCIONAL Y SU IMPORTANCIA EN EL MARCO DE LA FISIOLÓGÍA OVÁRICA DE CRUSTÁCEOS SUPERIORES

El desarrollo de un contingente importante de folículos en vitelogénesis II se asocia a una detención en la evolución del estrato oocitario en vitelogénesis I, lo cual en crustáceos superiores se relaciona con la ausencia del tejido folicular II (o permanente), requiriéndose para su utilización por los oocitos (vitelogenéticos I) el vaciamiento previo del contingente en vitelogénesis II [Charniaux-Cotton, H. (1974, 1978); Schuldt, M. (1980a)]. La disponibilidad del mismo no es uniforme para toda la camada de oocitos en vitelogénesis I, por que la continuidad del contingente de células foliculares que liberan los oocitos al abandonar la región de vitelogénesis durante la fresa (delimitando la cavidad o cisterna folicular) sufre disrupciones en aquellos sitios del ovario donde se desarrollan procesos de reabsorción que afectan a oocitos pertenecientes a la camada en vitelogénesis II [Schuldt, M. (1987)]. Estas células foliculares que ingresan al ooplasma como fagocitos, integran una entidad denominada tejido folicular de sustitución [Rubiliani-Durozoi, M., *et al.* (1980)], significando necesariamente una merma de tejido folicular permanente. A esta sus-

tracción debe sumarse la mortalidad que experimentan las mismas durante la retracción de la cavidad de puesta y el ulterior repliegue del contingente folicular hacia los folículos primarios. Una disminución en la población folicular, debida a las mismas causas, había sido señalada para *P. argentinus* [Schuldt, M. (1980b, 1981)], sin embargo, la cantidad de estas células que finalmente serán reutilizadas por *P. ringueleti* parece ser aún menor (Figs. 11 y 12).

Los procesos de reabsorción oocitaria de los crustáceos se relacionan con una dieta deficiente, privación hormonal, falta de acoplamiento [Adiyodi, R.G. y T. Subramoniam (1983)], poluentes [Payen, G.G. y J.D. Costlow (1977)] y obliteración oviductal [Schuldt, M. (1987)], pudiendo plantearse la posibilidad de que la oosorción constituya una respuesta general frente a situaciones de estres diversas, cumpliendo con la necesidad de ajustar la numerosidad oocitaria a las posibilidades efectivas de puesta, constituyendo por ende un factor regulador de la fecundidad. La necrobiosis oocitaria, como fenómeno discreto, es un evento habitual en las gónadas de crustáceos.

En algunos ovarios de *P. ringueleti* (hacia fines del estadio IV), en oocitos que por su emplazamiento deben considerarse pertenecientes al estrato vitelogenético primario, se esboza un epitelio folicular del tipo del secundario, a pesar de hallarse estos oocitos imposibilitados (por la interposición de ovas residuales y/o proceso de oosorción) para recibir al grueso del tejido folicular que se aproxima [Schuldt, M. (1987)] (Fig. 11). De esta manera, se plantea la posibilidad de la persistencia del mecanismo primario de foliculogénesis II (v.g. por división de las células foliculares preexistentes).

Esta posibilidad requiere ser examinada en el contexto de la foliculogénesis de crustáceos isópodos en particular y la de crustáceos superiores en general. Besse, G. (1976), sobre la base del análisis de la oogénesis de *P. dilatatus*, llega a la conclusión de que la recomposición folicular en dicha especie se debe a la actividad mitótica de lo que denomina el epitelio prefolicular. Las mitosis se extenderían hasta el fin de la vitelogénesis I, a partir de la cual la expansión (o adaptación espacial) del estrato folicular se debería fundamentalmente a la distensión de las células conjuntivas. Besse, G. (1976) descarta la posibilidad de una ulterior reutilización de las células foliculares, como señala Charniaux-Cotton, H. (1978). Besse, G. (1976) se refiere a observaciones en otras especies de isópodos, siendo todas ellas

coincidentes en cuanto a la no recuperación de células conjuntivas.

En los ovarios de *P. ringueleti* se aprecia una reutilización de tejido folicular entre puesta y puesta (Schuldt, M. (1987)) (Fig. 11), si bien es probable que el número de elementos recuperados no satisface los requerimientos de los oocitos en vitelogénesis I que inician la vitelogénesis propiamente dicha (Meusy, J.J. y H. Charniaux-Cotton (1984)). La existencia de una entidad asimilable al tejido prefolicular de *P. dilatatus* no se observa en el ovario de *P. ringueleti*, si bien lateralmente al área germinal se aprecia la presencia de células conjuntivas que desde los bordes se integran a los oocitos en previtelogénesis y vitelogénesis I. Aunque esta discreta población lateral de células foliculares sea homologable en cierta medida al tejido prefolicular señalado por Besse, G. (1976), teniendo en cuenta la demanda de células foliculares de 8 series ventrales (o verticilos) de oocitos en vitelogénesis II, como es el caso de *P. ringueleti*, parece razonable aceptar que la demanda celular conjuntiva durante la vitelogénesis II, cuando se restaura el ciclo ovárico, es satisfecha de un modo significativo mediante mitosis en el folículo II. Han sido observadas figuras mitóticas en folículos pertenecientes a oocitos de aproximadamente 100 µm, tanto durante el ciclo puberal como en el transcurso de la fase repetitiva del ciclo ovárico (Schuldt, M. (inédito)). El hallazgo de estas imágenes es muy ocasional, lo cual no basta, en principio, para minimizar su aporte, ya que se sabe de la existencia de tumores donde la detección de figuras mitóticas es infrecuente (Dr. F. Cueva (com. pers.)). Un asincronismo en las divisiones de las células conjuntivas que integran los distintos folículos II es probable. Besse, G. (1976) señala la importancia de las divisiones asincrónicas en *P. dilatatus* (al menos hasta el comienzo de la vitelogénesis II).

Las células conjuntivas o foliculares revelan la existencia de un alto grado de especialización funcional (Charniaux-Cotton, H. (1974, 1978); Besse, G. (1976); Payen, G.G. y J.D. Costlow (1977); Meusy, J.J. (1980); Rubiliani-Durozoi, M., et al. (1980); Zerbib, C. (1980); y Schuldt, M. (1981)), no obstante, es evidente que la capacidad de división no se pierde, como se observa durante la reabsorción reaccional de oocitos en vitelogénesis II (Ginsburger-Vogel, T. y J.J. Meusy (1982)).

La recuperación de las células foliculares durante las sucesivas puestas ha sido establecida por primera vez por Charniaux-Cotton, H. (1974) para

O. gammarellus. El proceso parece válido para la mayoría de los crustáceos superiores (Charniaux-Cotton, H. (1978)). Posteriormente ha sido constatado también en *P. argentinus* (Schuldt, M. (1980)), *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Fauvel, Ch. (1981)), y *Palaemon serratus* (Pennant) (Faure, Y., C. Bellon-Humbert y H. Charniaux-Cotton (1981)). Cabe destacar que Fauvel, Ch. (1981) señala la ausencia de divisiones en el folículo II de los oocitos de ovarios pertenecientes a animales adultos.

En *P. argentinus*, en cambio, se observan mitosis foliculares en oocitos en vitelogénesis II pertenecientes a hembras ovígeras, si bien cabe consignar que cuesta hallar estas divisiones en secciones histológicas. Con una frecuencia algo mayor se observan duplicaciones de células conjuntivas en oocitos de hembras virginales en su primera maduración de puesta. Tanto en uno como otro caso las mitosis fueron detectadas en el período correspondiente a la primera mitad del desarrollo de la vitelación exógena, interpretándose que la frecuencia de la mitosis disminuye a medida que el oocito madura (Schuldt, M. (inédito)). Consecuentemente, adhiriendo a Besse, G. (1976), es probable que durante las últimas etapas del desarrollo oocitario predomine la distensión mecánica del epitelio folicular.

También en *P. ringueleti* se observa que las mitosis de las células foliculares son abundantes durante la previtelogénesis y vitelogénesis I, haciéndose cada vez más infrecuentes a medida que progresa la vitelogénesis II (Schuldt, M. (inédito)).

Exceptuando el caso de los isópodos citados por Besse, G. (1976), es posible integrar las observaciones de los diferentes autores en lo que se refiere al comportamiento de las células conjuntivas del folículo durante la oogénesis de crustáceos superiores, postulando una estrategia ovárica de tipo "oportunista" (Schuldt, M. (1987)). Según esta hipótesis, el ovario integra la población folicular durante la restauración del ciclo reproductor en primer término con células foliculares vaciadas en la puesta precedente, cubriendo luego eventuales pérdidas debidas a procesos necrobióticos (Schuldt, M. (1981)) mediante mitosis. De acuerdo con este modelo de integración folicular la persistencia del mecanismo primario de extensión folicular (por mitosis), en el caso de haber sido activado, circunscribe su acción, en mayor o menor medida, a las primeras etapas de la vitelogénesis II, ya que, aparentemente, durante la vitelogénesis avanzada

las células foliculares consiguen adaptarse al crecimiento oocitario mediante la extensión mecánica.

Dicho modelo funcional permite agrupar casos de muy elevada recuperación folicular (*O. gammarellus*, *M. rosenbergii*), de elevada recuperación (*P. argentinus*), y de escaso reaprovechamiento conjuntivo (*P. ringueleti*) (Schuldt, M. (1987)). En este contexto resta explicar el dispendio folicular de *Rhyscotoides legrandi* Johnson, *Asseillus* Geoffroy St. Hilaire, y *P. dilatatus* (Besse, G. (1976)).

2. PERIODICIDAD SEXUAL

Existe una gran variabilidad en Bopyridae respecto del número de puestas de cada hembra (1-10) y la duración del período de incubación de los embriones (9 días a 3 meses) (Vease síntesis en Beck, T.J. (1980a)). Para *P. floridensis* se consignan 7 puestas sucesivas, con un tiempo de incubación de 11-14 días, constatándose un mínimo de 9 días (Beck, T.J. (1980a)).

P. ringueleti se reproduce de agosto/setiembre a abril/mayo, siendo el período de septiembre a febrero el de mayor actividad sexual (Schuldt, M. y M.C. Damborenea (1989)). La estructura de las cohortes se diluye tanto por la permanencia de las larvas (micro y criptonisquias) sobre un hospedador intermediario (copépodo) no hallado aún, como por la dependencia que existe entre la talla de *P. ringueleti* y el tamaño del *P. argentinus* que lo hospeda, pudiendo caracterizarse sólo 2 distribuciones modales (seudocohortes) para *P. ringueleti* (Schuldt, M., et al. (1988)). La longevidad de las hembras de *P. ringueleti* depende del sexo del *P. argentinus* que parasita (los camarones masculinos son menos longevos que las hembras), viviendo *P. ringueleti* alternativamente 13 ó 16 meses (Schuldt, M. et al. (1988)).

Sobre la base de información de campo se estima que *P. ringueleti* produce 3 puestas entre agosto/setiembre y diciembre/enero, con un tiempo de incubación de aproximadamente 20 días para cada una de ellas, pudiendo producir potencialmente 6 puestas anuales (Schuldt, M. y M. C. Damborenea (1989)). No obstante, los datos que proporcionan al respecto los camarones con bopíridos e identificados por la distribución de *Phyllostomum* sp., suministran tiempos de incubación extremos (4-65 días). Asimismo es variable el tiempo que transcurre entre el abandono

del marsupio y el comienzo de la incubación siguiente (4-15 días). Es probable que estos valores dispares reflejen un efecto acuario. Empero, es posible extraer algunas conclusiones acerca de aspectos de la dinámica ovárica.

Considerando el discreto intervalo que transcurre entre una y otra incubación, es factible que la incubación máxima de 65 días sea el fruto de 3 evacuaciones e incubaciones sucesivas. Todos los embriones de una misma puesta poseen siempre el mismo grado de desarrollo (habitual en Bopyridae) (Bourdon, R. (1968); Stromberg, J.O. (1971); Cash, C.E. y R.T. Bauer (1992)). *P. ringueleti* puede producir 2 puestas con un intervalo de 4 días, permitiendo suponer que existen evacuaciones parciales, lo cual se correlaciona con el aspecto del ovario de la figura 14 (pertenece a una hembra virginal y la estructura ovárica no es habitual), donde la conformación de la región de vitelogénesis permite postular la posibilidad de que la puesta sea integrada sólo por algunos verticilos de oocitos en vitelogénesis II. El proceso de foliculogénesis II de *P. argentinus* (Schuldt, M. (1980a, 1981)), se desarrolla a partir del vaciado total de la región de vitelogénesis II, siendo coincidentes las observaciones de Fauvel, Ch. (1981) acerca del mismo proceso en *M. rosenbergii*. En consecuencia, puede suponerse que la ovulación de crustáceos superiores con un número discreto de hileras o verticilos de oocitos (1-4) implica el desarrollo de un fenómeno que afecta a todo el contingente de oocitos en madurez total. La evidencia de procesos de evacuación parcial en *P. ringueleti* constituye una particularidad relacionada con el hábito parasitario, y que condujo a una estrategia reproductora orientada hacia el incremento de la descendencia.

El disponer de un stock oocitario maduro de reserva es sin duda beneficioso, especialmente si el período de incubación se halla condicionado por la extensión del período de intermuda del hospedador (Beck, J.T. (1980a); Cash, C.E. y R.T. Bauer (1992)). La estructura ovárica de *P. ringueleti* permite una rápida adecuación funcional (v.g. sincronización) a la ecdisis del hospedador. Esta respuesta es posible dado el rol subordinado de la recuperación folicular en *P. ringueleti*, por que cuando existe una reutilización generalizada de células conjuntivas, la restauración ovárica es mas lenta debido a que la recomposición del stock de ovas maduras se efectúa entonces a partir de los oocitos en vitelogénesis I.

CONCLUSIONES

1) Los ovarios poseen una zona germinativa de tipo laminar que se extiende dorso-frontalmente, con un gradiente madurativo ventral que conduce a la estratificación germinal, pudiendo distinguirse en un ovario maduro, en sentido dorso-ventral a 4 regiones, cada una de ellas albergando una asociación celular definida: a) con gonias (principalmente primarias); b) con gonias II y oocitos en profase temprana; c) con oocitos en previtelogénesis y vitelogénesis I; y d) con oocitos en vitelogénesis II.

2) Sobre la base de estas asociaciones celulares se elaboró una escala de maduración sexual de 4 estadios: madurez incipiente (I), madurez media (II), madurez avanzada (III), y evacuación y postpuesta (IV).

3) El desarrollo de la región de vitelogénesis secundaria del ovario se relaciona con la presencia del macho sobre el abdomen de la hembra.

4) En *P. ringueleti*, contrariamente a lo que se observa en otros isópodos, existe una recuperación de elementos conjuntivos de los folículos vaciados en la puesta precedente. Esta reutilización folicular, en relación a los casos conocidos en distintas especies de crustáceos superiores, es de menor cuantía.

5) Para la foliculogénesis II de crustáceos superiores adultos se postula la existencia de una mecánica ovárica "oportunistá" que permite reducir al mínimo el dispendio energético-celular. La misma se caracteriza por una fase sinérgica de integración folicular secundaria y una etapa de distensión mecánica. La primera comprende la recuperación de las células foliculares liberadas y la complementación mitótica residual, que posiblemente se circunscribe al primer período de la vitelogénesis secundaria. La etapa de distensión del contingente folicular permite la adaptación de las células conjuntivas al crecimiento oocitario durante la vitelogénesis avanzada.

6) Experiencias de acuario prueban que *P. ringueleti* posee la capacidad de producir evacuaciones (parciales) que no comprenden a la totalidad de los oocitos en vitelogénesis II que alberga el ovario, si bien es probable que en la naturaleza cada puesta afecte íntegramente al stock de ovas maduras del mismo.

AGRADECIMIENTOS

Es deseo del autor agradecer las oportunas sugerencias de 2 revisores anónimos.

BIBLIOGRAFIA

- ABU-HAKIMA, R. 1984. Preliminary observations on the effects of *Epipenaeon elegans* (Chopra) (Isopoda Bopyridae) on reproduction of *Penaeus semisulcatus* de Haan (Decapoda; Penaeidae). Inter. J. Invertebr. Reprod. Develop. 7:51-62.
- ADIYODI, R.G. Y T. SUBRAMONIAM. 1984. Arthropoda-Crustacea. En: K.G. Adiyodi y R.G. Adiyodi (eds.). Reproductive Biology of Invertebrates. Wiley, Chichester. Vol. 1:443-496.
- BECK, J.T. 1979. Population interactions between a parasitic castrator, *Probopyrus pandalicola* (Isopoda: Bopyridae), and one of its freshwater shrimp hosts, *Palaemonetes paludosus* (Decapoda: Caridea). Parasitology 79:431-449.
- _____. 1980a. Life history relations between the bopyrid isopod *Probopyrus pandalicola* and one of its freshwater shrimp hosts *Palaemonetes paludosus*. Am. Midl. Nat. 104:135-154.
- _____. 1980b. The effects of an isopod castrator, *Probopyrus pandalicola* on the sex characters of one of its caridean shrimp hosts, *Palaemonetes paludosus*. Biol. Bull. 158:1-15.
- BESSE, G. 1976. Contribution a l'étude expérimentale de la physiologie sexuelle femelle chez les crustacés isopodes terrestres. These Doctorat d'Etat, Poitiers. N° AO 13.017:296 pp.
- BESSIS, M. 1970. La muerte de la célula. Triángulo (Buenos Aires) 9:191-196.
- BOURDON, R. 1968. Les bopyridae des mers Européenes. Mem. Mus. Natl. Hist. Nat. 50:77-424.
- CASH, C.E., y R.T. BAUER. 1992. Adaptations of the branchial ectoparasite *Probopyrus pandalicola* (Isopoda, Bopyridae) for survival and reproduction related to ecdysis of the host *Palaemonetes pugio* (caridea, Palaemonidae). J. Crust. Biol. (en prensa).
- CHANIAUX-COTTON, H. 1959. Etude comparee du développement post-embryonnaire de l'appareil génital et de la glande androgene chez *Orchestia gammarella* et *Orchestia mediterranea* (Crustacés Amphipodes). Autodifférentiation ovarienne. Bull. Soc. Zool. 84:105-115.
- _____. 1974. Données nouvelles concernant la vitellogenese des Crustacés Malacostracés obtenues chez 1 Amphipode *Orchestia gammarellus* (Pallas): folliculogenese a partir d un tissu permanent; action

- du busulfan; action inhibitrice de hormone juvénile. C. R. Acad. Sci. 279:563-566.
- _____. 1976. Contrôle endocrine de la différenciation sexuelle et du maintien des gonies chez les Crustacés Malacostracés. Colloques internationaux C.N.R.S. 251:235-256.
- _____. 1978. L'ovogenèse, la vitellogénine et leur contrôle chez le Crustacé Amphipode *Orchestia gammarellus* (Pallas). Comparaison avec d'autres Malacostracés. Arch. Zool. Exp. Gén. 119:365-397.
- CHRISTIANSEN, H.E. 1971. Reproducción. Estudio histológico del ciclo reproductivo. En: S.R. Olivier (ed.). Estructura de la comunidad, dinámica de la población y biología de la almeja amarilla (*Mesodesma mactroides* Desh. 1854) en Mar Azul (Pdo. de Gral. Madariaga, Buenos Aires, Argentina). Proyecto Desarrollo Pesquero. Mar del Plata: 37-47.
- DALE W.E. y G. ANDERSON 1982. Comparison of morphologies of *Probopyrus bithynis*, *P. floridensis* and *P. pandalicola* larvae reared in culture (Isopoda: Epicaridea). J. Crust. Biol. 2:392-409.
- FAURE, Y., C. BELLON-HUMBERT y H. CHARNIAUX-COTTON. 1981. Folliculogenèse et vitellogenèse secondaires chez la Crevette *Palaemon serratus* (Pennant); contrôle par les pedoncules oculaires et l'organe X de la médulla externa (MEX). C. R. Acad. Sci. 293:461-466.
- FAUVEL, CH. 1981. Etude de l'ovaire de la Crevette d'eau douce *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) au cours du cycle de reproduction. Première description de la folliculogenèse secondaire chez un Crustacé Décapodé. C. R. Acad. Sci. 292:547-552.
- GABE, M. 1968. Techniques histologiques. Masson et Cie. Paris. 1113 pp.
- GINSBURGER-VOGEL, T. y J.J. MEUSY. 1982. Etude de la synthèse de la vitellogénine chez les mâles intersexués d'*Orchestia gammarellus* (Pallas) (Crustacé Amphipode). Effets de la greffe d'un ovaire. Can. J. Zool. 60:2588-2593.
- KRISHNAKUMAR, R. y K.G. ADIYODI. 1981. Spermatoca of the crab *Paratelpusa hydrodromous* (Herbst): mechanism controlling its activity. U.K. Meeting Intern. Soc. Invertebr. Reprod.:38.
- KURIS, A. M. 1974. Trophic interactions: similarity of parasitic castrators to parasitoids. Q. Rev. Biol. 49. 129-148.
- LAULIER, M. 1974. Caracteres cytologiques de la cellule sexuelle femelle du Crabe *Carcinus maenas* L. au cours de la gamétogenèse. Cah. Biol. Mar. 15: 159-167.
- Legrand, J.J. 1958. Induction de la maturité ovarienne et de la mue parturiale par la fécondation chez l'Oniscoïde *Porcellio dilatatus*. C. R. Acad. Sci. 247:754-757.
- MARKHAM, J.C. 1985. Redescription and systematic remarks on *Probopyrus buitendijki* (Horst, 1910) (Isopoda, Bopyridae), parasitic on *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) in Southeast Asia. J. Crust. Biol. 5:673-682.
- MEUSY, J.J. 1980. Vitellogenin, the extraovarian precursor of the protein yolk in Crustacea: A review. Reprod. Nutr. Develop. 20:1-21.
- MEUSY, J.J. y H. CHARNIAUX-COTTON. 1984. Endocrine control of Vitellogenesis in Malacostraca Crustaceans. En: W. Engels et al. (eds.). Adv. Invertebr. Reprod. Elsevier. Amsterdam. Vol. 3: 231-241.
- PAYEN, G.G. 1974. Morphogenèse sexuelle de quelques Brachyours (Cyclométopes) au cours du développement embryonnaire, larvaire et post-larvaire. Bull. Mus. Natl. Hist. Nat. 139:201-262.
- _____. 1977. Ultrastructure de la zone germinative testiculaire et des spermatogonies secondaires chez des Crustacés Décapodes Brachyours Normaux et épédonculés. Arch. Anat. Micros. Morph. Exp. 66:163-180.
- PAYEN, G.G y J.D. COSTLOW. 1977. Effects of a juvenile hormone mimic on male and female gametogenesis of the Mud-Crab *Rhithropanopeus harrisi* (Gould) (Brachiura: Xantidae). Biol. Bull. 152: 199-208.
- PROVENZANO, A.J. 1985. Commercial Culture of Decapod Crustaceans. En: The Biology of Crustacea. Academic Press. New York. Vol. 10:269-314.
- ROUQUETTE, M. 1970. Etude du tissu ovarien chez le Crabe *Pachigrapsus marmoratus* (Fabricius). Premières résultats concernant les rôles de la température et des pedoncules oculaires. Bull. Soc. Zool. 95:233-240.
- RUBILLIANI-DUROZOI, M., C. RUBILIANI y G.G. PAYEN. 1980. Déroulement des gamétogenèses chez les Crabes *Cardinus maenas* (L.) et *C. mediterraneus* Czerniavsky parasités par la Sacculine. Intern. J. Invertebr. Reprod. 2:107-120.
- SCHULTD, M. 1980a. La estructura ovárica de *Palaemonetes argentinus* Nobilli, 1901 en relación con aspectos actuales de la morfología funcional de crustáceos superiores. Neotrópica 26:155-162.
- _____. 1980b. Evolución de la célula sexual femenina de *Palaemonetes argentinus* Nobilli, 1901 (Crustacea, Palaemonidae) durante la oogénesis. Limnobiós 1:461-469.
- _____. 1981. Interpretación funcional de cambios microanatómicos en el ovario de *Palaemonetes argentinus* Nobilli, 1901 (Crustacea, Palaemonidae) durante desove y postpuesta. Limnobiós 2:141.151.
- _____. 1983. Reproductive cycle of *Probopoyrus* cf. *oviformis* (Isopoda Epicaridea Bopyridae). Abstracts IIIrd. Inter. Symp. Invertebr. Reprod. Tübingen:64.
- _____. 1987. Oviduct obstruction and ovary reaction in *Palaemonetes argentinus* Nobilli, 1901 (Crustacea, Caridea, Palaemonidae). An approach to the study of follicular dynamics in higher crustacea. Physis B 45:65-72.

- _____. 1990. *Probopoyrus ringueleti* Verdi y Schuldt, 1988 (Crustacea, Epicaridea, Bopyridae) huésped de las cámaras branquiales de *Palaemonetes argentinus* Nobili, 1901 (Crustacea, Caridea, Palaemonidae): Aspectos eto-ecofisiológicos del consorcio y su correlato taxonómico. An. Soc. Cient. Arg. 220:7-18.
- SCHULDT, M. y M.C. DAMBORENEA. 1987. La fecundidad de *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Palaemonidae) en el Canal Villa Elisa (Punta Lara, Provincia Buenos Aires, Argentina). Ann. Mus. Hist. Nat. Valparaiso 18:33-39.
- _____. 1989. Infección de *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Palaemonidae) con *Probopoyrus* cf. *oviformis* (Crustacea, Bopyridae) en el Canal Villa Elisa (Selva Marginal de Punta Lara, Provincia de Buenos Aires, Argentina). I. Estructura poblacional del consorcio, interacción y fluctuación. Biota 5:21-53.
- SCHULDT, M., L.R. FREYRE y M.C. DAMBORENEA. 1988. Infestación de *Palaemonetes argentinus* (Crustacea Palaemonidae) con *Probopoyrus* cf. *oviformis* (Crustacea Bopyridae) en el Canal Villa Elisa (Selva Marginal de Punta Lara, Provincia de Buenos Aires, Argentina). II. Crecimiento de los consortes. An. Soc. Cient. Arg. 218:37-48.
- SCHULDT, M. y L.A. RODRIGUES-CAPÍTULO. 1985. Biological and pathological aspects of Parasitism in the Branchial Chamber of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Decapoda) by Infestation with *Probopoyrus* cf. *oviformis* (Crustacea: Isopoda). J. Invertebr. Path. 45:139-146.
- _____. 1987. La infestación de *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Palaemonidae) con *Probopoyrus* cf. *oviformis* (Crustacea: Bopyridae). I. Observaciones sobre la histopatología y fisiología branquial de los camarones. Rev. Mus. La Plata n. ser. Zool. 14:65-82.
- STROMBERG, J.O. 1971. Contribution to the embryology of bopyrid isopods with special reference to *Bopyroides*, *Hemiarthrus* and *Pseudoione* (Isopoda, Epicaridea). Sarsia 47:1-46.
- SZIDAT, L. 1977. Descripción del ciclo vital de *Probopoyrus oviformis* Nierstrasz y Brender-a-Brandis, parásito de la cámara branquial de *Palaemonetes argentinus* Rev. Mus. Arg. Cs. Nat. Bernardino Rivadavia (Parasitología) 2:1-5.
- VARADARAJAN, S. y T. SUBRAMONIAM. 1980. Histochemical investigations on vitellogenesis of anomuran crab, *Clibanarius clibanarius*. Inter. J. Invertebr. Reprod. 2:47-58.
- VERDI, A.C y M. SCHULDT. 1988. Descripción y biología de *Probopoyrus ringueleti* n.sp. (Crustacea, Epicaridea, Bopyridae). Efectos sobre el hospedador *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Caridea, Palaemonidae). An. Soc. Cient. Arg. 218:15-26.
- WEIBEL, E. R. 1969. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. Inter. Rev. Cytol. 26:235-302.
- ZERBIB, C. 1976. Nature chimique des enclaves vitellines de l'ovocyte du Crustacé Amphipode *Orchestia gammarellus* (Pallas). Ann. Histochem. 21:279-295.
- _____. 1980. Ultrastructural observation of oogenesis in the Crustacea Amphipoda *Orchestia gammarellus* (Pallas). Tissue Cell 12:47-62.